

과배란 처치시 우세난포 조절에 의한 한우 수정란
생산성 향상에 관한 연구
I. 우세난포 처리에 따른 난소반응

이동원 · 이병천[†] · 신수정 · 박종임 · 황우석
서울대학교 수의과대학

**Superovulation Response after Follicular Wave Synchronization with
Follicular Aspiration by Ultrasonography in HanWoo**
I. Effect of Follicular Aspiration on
Ovarian Response Following Superovulation

D. W. Lee, B. C. Lee[†], S. J. Shin, J. I. Park and W. S. Hwang
College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742

SUMMARY

In this study, the effect of the dominant follicle aspiration for the superovulatory response in HanWoo was investigated. The criterion for the presence or absence of a dominant follicle based on their morphological examination. The dominant follicle was aspirated 48hr before the onset of superovulation treatment by 6.5MHz convex probe connected with a carrier and superovulation induced by FSH(Super-Ov[®] Tyrer, Texas, U.S.A.) administered twice a day s.c. over 4 day in a decreasing regimen. From 13 HanWoo scanned daily to determine the presence and growth of the dominant follicle, its an average diameter of 15.4mm was measured and an average diameter of corpora lutea was 18.7mm on day of follicular aspiration. In the experiment, a follicular remove by ultrasound-guided aspiration, the ovarian response was significantly enhanced when animals were superovulated in the aspiration of a dominant follicle compare with animals superovulated non-aspiration of a dominant follicle. In the aspiration of a dominant follicle donors yielded more corpora lutea (14.4 ± 4.7 vs 8.6 ± 3.4), and transferable embryos (8.9 ± 4.2 vs 5.4 ± 2.7) than control. In cows in which the dominant follicle had been aspirated under sonographical control 2 days before superovulation, the number of corpus lutea and transferable embryos were significantly enhanced compared with animals superovulated in the presence of a dominant follicle(14.4 ± 4.7 vs 6.9 ± 2.7 ; 8.9 ± 4.2 vs 3.3 ± 1.6). After 7 days of artificial insemination, the embryos at 7 days were collected by uterine flushing after dominant follicle aspiration and superovulation treatment, and evaluated their quality by morphological criteria. Sixteen embryos with excellent and good

본 연구는 학술진흥재단의 연구지원(과제 번호 1998-001-G00440)에 의해 수행되었음.
[†] 교신저자

grade were transferred into 8 recipient cows. Six pregnancies were identified at 60 and 120 days of gestation by rectal palpation.

In conclusion, the present study showed that 1) the presence or absence of a dominant follicle significantly affects superovulatory responses, and 2) ultrasound-guided follicular aspiration of the dominant follicle and superovulation treatment provides an accurate and procedure to increase ovarian responses in HanWoo.

(Key word : HanWoo, superovulation, dominant follicle, follicular aspiration)

서 론

산업 동물의 생산성 향상 및 개량 효과를 극대화하기 위한 방법의 하나인 수정란 이식은 포유동물의 전반에 적용되어 가축뿐만 아니라 멸종위기에 처한 희귀 동물의 종족보존 및 번식에도 적용되는 유용한 기술로 자리를 잡고 있다 (Braclett과 Zuelke, 1993; May, 1996), 특히 산업동물인 소에서 그 이용 효과가 높아 실용화 및 산업화 과정에 접어들었으며, 현재 수정란 이식효율에 직접 영향을 미치는 요인인 공란우의 선정, 과배란 처치, 수정란의 동결보존 및 이식법의 개발에 관한 많은 연구가 진행되고 있다 (Lohram 등, 1998; 이 등, 1996; Armstrong, 1993).

소에서의 수정란 이식은 유전적으로 우수한 능력을 가진 암소 (공란우; donor cow)에 난포자극호르몬을 이용한 과배란 처치를 실시한 후, 배란된 다수의 난자에 우수한 종모우의 정액으로 인공수정을 실시하고, 이후 자궁에서 수정란을 회수하여 보통의 능력을 지닌 대리모(수란우; recipient cow)의 자궁에 수정란을 이식, 임신시켜 일시에 다수의 우수한 산자를 생산하는 기술이다. 이러한 수정란 이식 기술을 이용하면 능력이 우수한 모축으로부터 1회에 5~10개의 이식 가능한 수정란을 회수하여 직접 또는 동결보존 후 용해하여 수란우에 이식하여 우량형질을 지닌 가축의 이용효율을 극대화 할 수 있다 (황 등, 1993).

이러한 수정란 이식 효율에 가장 영향을 미치는 과정 중 하나는 과배란 처치이다 (Boland 등, 1991). 과배란은 호르몬 처치로 유도되는데 (Bishop 등, 1996), 공란우의 번식 상태, 유전 및 환경적 요인에 의해 다양한 난소반응이 관찰되기 때문에, 회수되는 수정란의 수를 예측하기가 매우 어렵다.

이와 같은 문제점을 해결하기 위하여 고 순도의 호르몬제의 개발 및 투여법의 개선에 대한 많은 연구가 있었으며 (Bishop 등, 1996), 최근에는 초음파를 이용하여 우세난포(dominant follicle)를 제어함으로써 인위적으로 난소내 난포의 생성을 조절하는 방법도 연구되고 있다 (Bungortz와 Niemann, 1994).

과배란 처치에 대한 다양한 난소반응은 여러 가지 내적 또는 외적인 요인이 작용하는 것으로 알려져 있으며, 여기에는 수란모축의 잠재적인 능력, 분만 후의 생리적 공태기간, 번식장애우(repeat breeder), 영양상태, 품종, 계절 등이 포함되며, 또한 난소 상태에 의한 내적인 요인이 커다란 비중을 차지한다는 보고가 있다(Monnaux 등, 1984). 즉 과배란 처치전의 난소내에 우세한 난포가 존재할 경우 과배란 효과를 낮아진다는 것이다(Nasser 등, 1993; Lussier 등, 1994).

난소는 한 발정주기에 난포의 성장과 위축을 반복하는 2~3개의 난포 주기파(follicular wave; Matton 등, 1981; Ireland 와 Roche, 1987; Pierson 과 Ginther, 1987)를 나타내며, 각파에는 1개의 난포가 우세하게 커지면서 동일 난소파 내의 다른 난포들을 위축·퇴화시키는 것으로 알려져 있다 (Sirosis 와 Fortune, 1988; Savio 등, 1988). 또한 Guilbault(1993)는 과배란 처리시 초음파로 난포의 발달을 관찰하여 우세난포가 존재할 때는 난포의 과배란 처치에 대한 난포의 생성과 발육에 상당한 저하가 발생한다고 보고하였고(40~50% 감소), Huhtinen 등(1992)은 난소에서 우세난포를 제거하고 과배란 처리를 하였을 때 이식 가능한 수정란의 수가 증가하였다고 보고하였다. Bungarz와 Niemann(1994), 그리로 Kohram(1995)은 초음파를 이용하여 우세난포를 확인하고 이를 과배란 처치에 연관시킴으로써 과배란 효과 증진에 한층 정확한 정보를 제공하였다. 또한 De Ruigh 등(1996)은 과

배란 처치 전(38~46h)에 우세난포를 인위적으로 제거하는 방법을 적용하였을 때 제거하지 않은 군보다 난소 반응 및 수정란의 생산이 증가하였다고 보고하였다.

본 연구에는 과배란 처치전 난소내 우세난포를 인위적으로 제어한 후, 최근 널리 쓰이고 있는 FSH(follicular stimulation hormone) 감량 투여법을 과배란 처치에 적용하여 이식 가능한 수정란 생산의 증진을 도모하기 위하여 실시되었다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

경북 및 경기지역에 위치한 한우 농장의 암컷 성우 중 직장검사 및 초음파 검사를 통하여 생식기계에 이상이 없고, 정상적인 발정 주기를 가지며 체중이 400kg 이상인 한우를 공란우로 선발하여 실시하였다. 선발된 공란우는 2개월간 예비사육을 통하여 난소의 상태를 개선할 수 있는 영양상태로 사육하였으며, 정상 발정주기를 지니는지를 확인하여 최종 공란우로 선발하였다.

2. 과배란 처치전 우세난포의 결정

발정 주기 3일째부터 real-time linear scanning ultrasound diagnostic system을 사용하여 과배란 처리일(발정 주기 9일)전까지 난소내 난포를 매일 검사하였다. 난소의 초음파 상은 전일의 기록과 비교하여 4mm 이상의 난포에서 성장, 위축상을 비교하였다. 우세난포(dominant follicle)는 한우(n=7)의 난소내 직경 >9mm의 성장기상태의 난포에서 그 크기가 <4일 동안 유지되는 것으로 선정하였으며, 비우세 난포는(non-dominant follicle) 직경 <10mm의 난포에서 위축기 상태에 있는 난포에서 그 크기가 <4일 유지되는 것으로 하였다.(Sirosis과 Fortune 1988; Grasso. 1989)

3. 과배란 처리

실험 대상 한우를 prostaglandin F_{2α} 25mg을 11일 간격으로 2회 주사하여 발정동기화를 유도한 후 발정을 확인하여 발정 주기(standing estrus=day 0)의 day 9에 FSH, Super-Ov(Ausa. Inter-

national Inc. Canada) equivalent 75units NIH-FSH-S1을 감량 투여법으로 일일 2회씩 4일간 과배란 처리하였다(a.m/p.m, 1일 15.0/15.0, 2일 11.3/11.3, 3일 7.5/7.5, 4일 3.75/3.75). FSH투여 3일째에는 prostaglandin F_{2α} 25mg씩 2회 투여하여 잔류황체를 제거하여 발정 및 과배란을 유기하였다. 발정증상이 보이면 12시간 간격으로 2회 인공수정하였다.

4. 실험동물군 처리

실험동물은 3개군으로 나누어 제1군을 대조군으로 하고, 제2군은 우세 난포가 존재하는 군에서 우세 난포를 제거하지 않은 군으로, 제3군은 우세난포를 제거한 군으로 설정하여 과배란 처치전 48시간 전에 직장벽을 통하여 ultrasound-guided follicular aspiration 처리를 하였다.

5. 우세 난포의 제거

초음파 유도에 의한 우세 난포의 흡인은 Pieterse 등(1991b), Bols(1995), Bols 등(1997) 및 이 등(1997)의 방법을 응용하여 실시하였다. 공란우를 보정틀에 고정하여, 2% xylazine (0.25ml/100kg)과 5% lidocaine(3~4ml) 혼합제로 경막외마취를 실시한 후, 채취 기기를 질내로 삽입하였다. 난자흡인용 배지(PBS, 2% fetal calf serum, 0.2% heparin)로 일회용 주사침(20G, TERUMO, Japan) 및 흡인관내를 충전한 후, 초음파 진단기는 sector scanner(Pie Medical, Netherlands)로 준비된 transducer guide내에 7.5MHz transducer를 장착시키고, guide는 질내로 삽입하여 난소를 관찰하여 초음파상의 난포를 확인하였다. 우세난포의 제거는 regulated vacuum pump를 작동하고 needle을 난포내에 삽입한 후, 난포액을 흡인하여 실시하였다.

6. 수정란 회수 및 수정란 검사

과배란 처리와 인공수정 실시 후, 공란우의 발정 발현 7일째에 2% lidocaine(Jeil Pharm. Co., Korea)로 경막외 마취 후 난소를 검사하여 황체의 수와 미배란 난포의 수를 조사하였다. 수정란 회수는 Foley catheter(Agtech, Tsch, U.S.A)를 사용하여 자궁체에 고정된 후 1% FBS 첨가된 Dulbecco's

phosphate buffered saline(D-PBS, Gibco, BRL Life Technologies, U,S,A)용액을 사용하여 비외과적 방법을 통하여 실시하였다. 실체현미경(Olympus, Japan)하에서 회수된 관류액 중의 수정란을 회수하여, 20% FBS첨가 D-PBS용액이 들어있는 petri dish로 옮겨 수정란 발육단계와 질을 형태학적으로 평가하였다. 수정란의 발육단계는 Lindner와 Wright(1983)의 기준에 따라 상실배기(morula), 배반포기(blastocyst) 및 확장배반포기(expanded blastocyst)로 구분하였으며, 수정란의 질은 우수(excellent), 우량(good), 보통(fair) 및 불량(degenerated, unfertilized ovum)으로 구분하였고 이중 이식가능 수정란은 우수, 우량, 보통을 나타내는 수정란으로 하였다.

7. 수정란 이식 및 임신진단

채취된 수정란중 excellent 및 good 등급의 수정란만을 이식하였다. 이식은 경막외 마취 후 수정란 이식기를 사용하여 황체가 존재하는 자궁각 선단부에 excellent 및 good 등급의 수정란을 각각 1개씩 2개를 이식하였다. 임신진단은 발정 60 및 120일에 직장검사를 통하여 실시하였다. 이때 쌍자 여부는 확인하지 않았다.

8. 통계학적 분석

실험결과와 통계학적 분석은 Student t-test로 모든 자료를 분석하여 유의성을 비교 조사하였다.

결 과

1. 난포 및 황체의 초음파 기록

과배란 처리전 우세 난포의 선별과정에서의 발정 주기 초음파적 난소의 관찰결과 초음파상의 우세 난포 제거시 이들 우세 난포의 평균직경은 15.4mm이었으며 평균황체 직경은 18.7mm이었다. 또한 좌우 난소에 존재하는 평균 황체 수는 14.8개 였다.

2. 우세난포 처리에 따른 난소 반응의 비교

과배란 처리 전 우세난포 처리에 따른 과배란 효율비교에서 우세난포를 흡입처리한 군 (dominant follicle aspiration group)의 난소반응이 수정란 회

Table 1. Diameter of dominant follicle and corpus luteum before superovulation and number of corpus luteum on the day of embryo collection

Cows No.	Diameter of dominant follicle(mm)	Diameter of corpus luteum(mm)	No. of corpus luteum*
5 ^A	16.2	17.0	14
6 ^A	12.0	20.0	20
8 ^A	12.8	25.0	16
10 ^A	15.0	24.4	10
18 ^A	14.0	20.0	23
40 ^A	15.5	17.5	10
45 ^B	17.5	15.0	12
46 ^B	15.0	13.0	15
48 ^A	16.0	14.0	12
49 ^A	17.0	26.5	14
50 ^A	15.7	15.0	10
51 ^A	16.0	15.0	20
2636 ^B	18.0	20.5	17
Mean±SD	15.4±1.7	18.7±4.5	14.8±4.2

*No. of Corpus luteum was counted by rectal palpation and ultrasound scanning on the day of embryo collection.

^ADominant follicle was aspirated at day 7.

^BDominant follicle was aspirated at day 9.

수시 황체의 수와 이식가능 수정란 수가 각각 14.4±4.7개, 8.9±4.2개로 우세난포 비처리군 (dominant follicle non-aspiration group, 6.9±2.7개, 3.3±1.6개)과 대조군 (control, 8.6±3.9, 5.4±2.7개)에 비하여 유의적으로 높게 나타났다.

3. 수정란 이식 후 수태율

우세난포 제거후 회수된 수정란 중 16개를 수란수에 이식한 후 임신 60일과 120일에 직장검사로 임신진단한 결과 6마리가 수태된 것을 확인하였다.

고 찰

본 실험은 난소 주기파의 초음파학적 검사를(Ireland와 Roche, 1987) 우세난포의 선별과 배제에 적용하여 이에 따른 한우에서의 과배란 처치의 효율

Table 2. Ovarian response and embryo yield following superovulation in HanWoo

	Control(n=15)	Dominant follicle	
		Non-Aspiration(n=7)	Aspiration*(n=10)
No. of corpus luteum	8.6±3.9 ^a	6.9±2.7 ^a	14.4±4.7 ^b
No. of transferable embryo	5.4±2.7 ^a	3.3±1.6 ^a	8.9±4.2 ^b

Values are means±SD.

^{ab}Different subscripts in the same row differ significantly(p<0.05).

*Dominant follicle was aspirated 48h before superovulation..

Table 3. Pregnancy of HanWoo embryos* after embryo transfer

No. of recipient	No. of transferred embryos**	No. of pregnant recipient*** at	
		60 days	120 days
8	16	6	6

*Embryo was collected by uterine flushing after dominant follicle aspiration and superovulation treatment.

**Paired embryos(grade=excellent + good) were transfer to each recipient.

*** Twin were not classified.

성 증진을 도모하기 위하여 실시되었다. 실험 결과 초음파학적 검사로 관찰된 우세 난포를 OPU기술을 응용하여 인위적으로 제거한 후 과배란 처리를 한 결과 대조군에 비하여 유의적으로 높은 난소 반응을 볼 수 있었다. 이러한 우세난포는 negative feedback에 의하여 뇌하수체의 FSH분비를 제어함으로써 다른 소난포들의 성장 및 발달을 억제하는 작용이 있는 것으로 알려져 있으며(Sirosis와 Fortune, 1988; Savio 등, 1988), 또한 난소에 직접적인 작용을 한다고 보고하였다(Lussier 등, 1987). Lavoire와 Fortune(1990)은 형태학적 및 기능적인 작용을 가지고 있는 것을 우세난포라 정의하였으며, 이러한 우세난포가 황체의 존재 하에서 최고 성장기에 도달하였을 때, 인위적으로 황체 용해를 유기하면 급속히 퇴화하면서 새로운 배란성 난포의 생성을 유발시키는 작용이 있다고 하였다 (Kastelic 등, 1990; Savio 등, 1990; Driancourt 등, 1991). 또한 Pierson 과 Ginther(1987)가 성장기 과정에 있는 9mm 이상의 난포가 다른 소난포의 발육을 억제하여 과배란 처리시 우세난포가 존재할 경우 과배란 효과를 감소시킨다고 보고하였으며, Grasso 등(1989)에 의하여 과배란 처리 개시일에 우세난포가 존재할 경우 배란율의 저하가 관찰되어, 과배란

효율은 과배란 처리 개시일의 난소상태에 따라 다양한 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서는 우세 난포 제거시의 과배란 효율에서 배란율이 개체별로 급격한 변화를 보이지 않고 거의 비슷하게 나타났는데(황체의 수: 평균 14개) 이것은 Guilbault 등(1993)의 실험에서 비우세 난포군에서의 과배란 처리 배란율이 일정하게 나온 결과와 일치하는 것으로 여러 실험에서 보인 결과와 같이 우세 난포를 제거한 군과 비우세 난포군과의 과배란 효율이 유사한 결과를 보이는 것으로 추정할 수 있다.

본 연구에서는 이러한 난소 주기파 중 발정주기 3일에서 난포 침착시기인 7일까지의 초음파학적 검사결과 우세한 난포를 가진 것으로 나타난 공란우 중 우세 난포를 제거한 후 과배란 처리한 군과 비우세 난포군들의 난소 반응중 배란율은 차이가 없으나 회수 수정란의 수가 Bungartz와 Niemann(1994)의 보고와는 상당한 차이가 있었는데 이는 품종에 따른 차이 및 수정란 회수 과정에서의 차이로 사료된다.

Adam 등(1992)에 의하면 우세 난포를 제거한 후 2일 후 즉시 FSH의 농도가 상승하여 새로운 난포파를 유기시켜 이때 과배란 처리를 하여 난소반응을 향상시켰다고 보고하였는데, 이러한 우세 난포

를 제거하기 위한 시도는 Bo 등(1991, 1992)이 우세 난포를 퇴축시키기 위하여 estrogen을 사용하여 시도하였고, Savio 등(1990)은 GnRH를, Calder 등(1992)은 우세 난포를 황체화시키기 위해 hCG를 각각 사용하여 실험하였으나 과배란 반응의 유의한 효과를 얻지 못하였다. 또한 인위적인 제거방법으로 복벽 절개를 통한 ovariectomy 또는 전기소락법으로는 과배란 효율의 증진을 보았으나 이것은 기술상의 어려움이 따르며(Staigmiller와 England, 1982; Ko 등, 1991), 시술자의 손으로 직접 난포를 제거하는 방법은 유착과 불임의 원인이 될 수 있어 권장되고 있지 못하다.

우세난포의 초음파적 검사에 의한 선별과정에서 비우세 난포군은 소난포의 수가 우세 난포군에 비해 많았는데 이것은 Grasso와 Guilbault(1989)가 주장한 초음파검사를 당일 1회만 실시하여 검사할 경우 직경이 3~8mm 되는 난포가 10개 이상인 것은 우세 난포를 가지고 있지 않다는 주장이 한우에서도 일치한다는 것을 나타낸다. 이로 인하여, Guilbault 등(1993)이 주장한 초음파 검사에 의한 검사시 >10mm의 난포가 <4일 동안 유지되는 것에 의한 우세 난포의 선별방법이 임상적으로 field에서 과배란 처리를 할 경우 소에 대한 stress를 가져올 뿐 아니라 과배란 처리의 과정에 적용하기가 어렵기 때문에 Grasso 등(1989)이 주장한 당일검사에 의한 우세 난포의 선별방법에 대한 연구가 추후 요구되는 것으로 사료된다. Bungartz 등(1994)은 이러한 당일 검사법에 의한 우세 난포 선별 후 과배란 처리를 하여 유의한 결과를 가져온 바 있다.

과배란 처리 개시일에 따른 난소반응의 차이에 대한 실험에서 발정주기 중의 황체기에 해당하는 주기 7일에서 14일 사이에서 발정주기 9일과 11일에 따른 과배란 처리 효율에서는 우세 난포를 과배란 처리 48시간 전에 처리한 결과 배란율에 있어 황체의 수가 각각 평균 14.4±4.7개 및 15.5±5.6개로 유의적인 차이를 볼 수 없었는데 이것은 과배란 처리 개시일의 황체 크기와 혈중 progesterone 농도에 의한 과배란 반응 차이에 의한 과배란 효율과 우세 난포의 유무에 따른 효율과의 비교에 의한 실험이 필요할 것으로 사료되지만 우세 난포를 제거한 경우에 48시간 후 새로운 난포파가 유기되어 과배

란 처리 효율에는 큰 영향을 주지 않은 것으로 보인다.

이와 같이 한우에서 초음파학적 검사와 이미 널리 실시되고 있는 난소에서의 미성숙란 채취법인 OPU(ovum pick-up)을 적용하면 난소내 우세난포 흡입 제거에 의해 과배란 처리를 수행하면 수정란 생산 측면의 잇점이 있는 것으로 본 연구에서 밝혀졌다. 또한 난포의 직접 흡입법은 우세난포 배란을 목적으로 성선 호르몬을 사용할 때보다 부작용이 낮으며, 이식 가능 수정란의 증산에 유효한 결과를 가져오는 것으로 나타났다. 향후, 난포 흡입과정에서 회수된 난포액과 미성숙 난자를 채취 수정란 생산에 응용하여 우수 유전형질을 지닌 가축의 이용 효율을 증대하는 것이 연구과제로서 사료된다.

적 요

본 연구는 한우에서 과배란 처치전 우세난포의 제거가 과배란 효율에 미치는 효과를 알아보기 위해 실시되었다. 본 실험에서 초음파학적인 난소의 난포 및 황체의 관찰기록 결과 우세난포의 평균직경은 15.4mm이었으며 평균황체의 직경은 18.7mm이었다.

각 군의 과배란 처리결과는 대조군의 평균 황체수와 이식 가능 수정란의 수는 8.6±3.9개와 5.4±2.7개, non-aspiration군에서는 6.9±2.7개와 3.3±1.6개, dominant follicle aspiration군에서는 14.4±4.7, 8.9±4.2개로 우세 난포가 존재하는 군에서 우세 난포를 흡입 처리한 군의 과배란 효율이 나머지 2개군 보다 유의적으로 높게 나타났다 ($p < 0.01$).

한우에서 초음파적 검사를 통하여 우세난포를 선별하여 흡입 제거한 후 과배란 처리를 할 경우 수정란 생산의 증진에 유효한 것으로 판단된다.

참고문헌

- Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JCH and Ginther OJ. 1992. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 94:177-188.

- Armstrong DT. 1993. Recent advances in superovulation of cattle. *Theriogenology*, 39:7-24.
- Bishop DK, Wettemann RP, Yelich JV and Spicer LJ. 1996. Ovarian response after gonadotropin treatment of heifers immunized against gonadotropin-releasing hormone. *J. Anim. Sci.*, 74:1092-1097.
- Bo GA, Adams GP, Nasser LF, Pierson RA and Mapletoft RJ. 1992. Estrogen suppression of the dominant follicle in heifers. *Proc. 12th Internat. Congr. Anim. Reprod.*, 3:1103-1105.
- Bo GA, Pierson RA and Mapletoft RJ. 1991. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. *Theriogenology*, 36:169-183.
- Boland MP, Goulding D and Roche JF. 1991. Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. *Theriogenology*, 35:5-17.
- Bols PEJ, Vandenheede JMM, Van Soom A and de Kruip A. 1995. Transvaginal ovum pick-up (OPU) in the cow : A new disposable needle guidance system. *Theriogenology*, 43:677-687.
- Bols PEJ, Ysebaert MT, Lein A, Coryn M, Van Soom and de Kruif A. 1997. Effects of long term treatment with bovine somatotropin on follicular dynamics and subsequent oocyte and blastocyst yield during an OPU-IVF program : In Transvaginal ovum pick-up in the cow : Technical and biological modifications (Thesis). *Universiteit Gent.*, 155-173.
- Brackett BG and Zuelke KA. 1993. Analysis of factors involved in the *in vitro* production of bovine embryos. *Theriogenology*, 39:43-64.
- Bungartz L and Niemann H. 1994. Assessment of the presence of a dominant follicle and selection of dairy cows suitable for superovulation by a single ultrasound examination. *J. Reprod. and Fert.*, 101: 583-591.
- Callesen H, Greve T and Christensen F. 1987. Ultrasonically guided aspiration of bovine follicular oocytes. *Theriogenology*, 27:217 abstr.
- Driancourt MA, Thatcher WW, Terqui M, Andrieu D. 1991. Dynamics of ovarian follicular development in cattle during the estrous cycle, early pregnancy and in response to PMSG. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 8:209-221.
- Grasso P, Reichert LE Jr. 1989. Follicle stimulating hormone receptor mediated uptake of Ca^{2+} by proteoliposomes and cultured rat sertoli cells: evidence for involvement of voltage-activated and voltage independent calcium channels. *Endocrinology*, 125:3029-3036.
- Guilbault LA, Rouillier P and Matton P. 1993. Relations between the level of atresia and inhibin contents (α subunit and α - β dimer) in Morphologically dominant follicles during their growing and regressing phases of developments in cattle. *Biology of Reproduction.*, 48: 268-276.
- Ireland JJ and Roche JF. 1987. Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine estrus cycle. In *Follicular Growth and Ovulation Rate in Farm Animals.*, 1-18.
- Kastelic JP and Ginther OJ. 1990. Fate of conceptus and corpus luteum after induced embryonic loss in heifers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 194:922-928.
- Ko JCH, Kastelic JP and Del Campo MR. 1991. Effects of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers. *J. Reprod. Fert.*, 91: 511-519.
- Kohram H, Bousquet D and Durocher J. 1998. Alteration of follicular dynamics and sup-

- erovulation responses by gonadotropin releasing hormone and follicular puncture in cattle: a field trial. *Theriogenology*, 49: 1165-1174.
- Lindner GM and Wright RW. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20:407-416.
- Lussier JG, Matton P and Dufour JJ. 1987. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. *J. Reprod. Fertil.*, 81:301-307.
- Lussier JG, Matton P, Guilbaut LA, Grasso F, Mapletoft RJ and Carruters TD. 1994. Ovarian follicular development and endocrine responses in follicular-fluid-treated and hemi-ovariectomized heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 102:95-105.
- Matton P, Adelakoun V, Couture Y and Dufour JJ. 1981. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrus cycle. *J. Anim. Sci.*, 52:813-820.
- May P. 1996. Bovine embryo transfer *Vet. Rec.*, 138:262.
- Monniaux D, Mariana JC and Gibson WR. 1984. Action of PMSG on follicular populations in heifer. *J. Reprod. Fertil.*, 70:243-253.
- Pierson RA and Ginther OJ. 1987. Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 190:995-1001.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruij ThAM, Wurth YA, van Beneden ThH, Willemse AH and Taverne MAM. 1991. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*, 35:19-24.
- Savio JD, Boland MP and Roche JF. 1990. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.*, 88:581-591.
- Savio JD, Keenan L, Boland MP and Roche JF. 1998. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 83:663-671.
- Sirosis J and Fortune JE. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.*, 39:308-317.
- Staigmiller RB, England BG, Webb R, Short RE and Bellows RA. 1982. Estrogen secretion and gonadotropin binding by individual bovine follicles during estrus. *J. Anim. Sci.*, 55:1473-1482.
- 이병천, 윤기영, 김현일, 노상호, 이강남, 황우석. 1997. 초음파유도에 의한 소 난포란의 채취에 관한 연구 II. 발정주기, 계절 및 bST 처치 영향에 관하여. *대한수의학회지*, 37:917-924.
- 이병천, 이강남, 김남렬, 황우석. 1996. 송아지 난소에서 초음파 유도에 의한 한우의 미성숙난자 채취시에 bST-FSH 처리효과에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 11:103-109.
- 황우석, 조충호, 이병천, 신태영, 노상호, 김성기, 전병준, 이강남, 신언익, 임홍순. 1993. 한우정액 유래 체외수정 송아지 생산에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 8:143-149.

(접수일 : 1999. 10. 2 / 채택일자 : 1999. 11. 26)